

FIZJOLOGIA

LABORATORIUM

Ćw 2: Trawienie białek, tłuszczów i cukrów

1. Trawienie białek

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. Roztwór albuminy w wodzie (0.1% w/w).
2. Roztwór enzymów trzustkowych (0.1%).
3. Na_2CO_3 (1%).
4. HCl (1 M).
5. CuSO_4 (3 %).
6. NaOH (10 %).
7. Stoper.
8. Probówki szklane (5).
9. Łaźnia wodna.
10. Pipety miarowe automatyczne: 100-1000 μl .

Do każdej z 5 szklanych probówek wprowadzić 0.5 ml roztworu albuminy. Następnie do probówek nr:

1. dodać 1.6 ml wody, 0.4 ml 1 % roztworu Na_2CO_3 i 1 ml roztworu trypsyny, wymieszać.
2. dodać 2.6 ml wody, 0.4 ml 1 % roztworu Na_2CO_3 , wymieszać.
3. dodać 1.5 ml wody, 0.5 ml 1 M roztworu HCl i 1 ml roztworu trypsyny, wymieszać.
4. dodać 2.5 ml wody, 0.5 ml 1 M roztworu HCl, wymieszać.
5. dodać 1.6 ml wody, 0.4 ml 1 % roztworu Na_2CO_3 i 1 ml roztworu trypsyny, wymieszać.

Probówki 1 - 4 wstawić do łaźni wodnej o stałej temperaturze 37°C na około 30 min.

Po tym czasie do każdej probówki dodać 5 kropli 3% CuSO_4 i 10 kropli 10 % NaOH. Zanotować obserwacje. W których probówkach doszło do trawienia białka?

2. Trawienie tłuszczów

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. Olej spożywczy.
2. Mleko.
3. Roztwór enzymów trzustkowych (0.1%).
4. Na_2CO_3 (1%).
5. Fenoloftaleina.
6. NaOH (0.1 M).
7. Lecytyna (10 %).
8. Metanol.
9. Stoper.
10. Probówki szklane (4).
11. Łaźnia wodna.
12. Pipety miarowe automatyczne: 100-1000 μL .

Do jednej probówki odmierzyć 2 ml roztworu enzymów, do drugiej 2 ml wody. Do obu probówek dodać po 4 ml mleka, po 2 – 3 krople fenoloftaleiny i kroplami 1% Na_2CO_3 do barwy

różowej. Obie próbki wstawić do łaźni wodnej o temperaturze 37 ° C. Po upływie ok. pół godziny zanotować obserwacje. W której próbce doszło do odbarwienia fenoloftaleiny i dlaczego?

Do 10 ml oleju dodać 8 kropli 0.1 M NaOH i mocno wytrząsać aż do uzyskania trwałej emulsji. Do dwóch szerokich probówek odmierzyć po 3 ml emulsji. Do jednej dodać 1 ml wody, do drugiej 1 ml lecytyny, a następnie do obu po 2 ml enzymów. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 20 min., wstrząsając energicznie co 5 min. Po zakończeniu inkubacji do obu probówek dodać po 8 ml metanolu i po 5 kropli fenoloftaleiny. Miareczkować 0.1 M NaOH do różowego zabarwienia. Do której próbki trzeba było dodać więcej zasady? Dlaczego?

3. Trawienie cukrów

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. Skrobia ziemniaczana.
2. Płyn Lugola.
3. Roztwór enzymów trzustkowych (0.1%).
4. Kuweta plastikowa.
5. Zlewki.
6. Stoper.
7. Pipety miarowe automatyczne: 10-100 μ l oraz 100-1000 μ l.
8. Spektrofotometr UV-Vis.

1. Przygotowanie skrobi.

Odważyć 1 g skrobi ziemniaczanej, dodać do niej niewielką ilość wody, aby uzyskać gęstą zawiesinę. Dodać to do 100 ml wrzącej wody destylowanej i mieszać kilka minut. Schłodzić.

2. Przygotowanie próbki.

1 ml tak przygotowanego roztworu skrobi przenieść do kuwety plastikowej. Dodać 1 ml wody, wymieszać. Dodać 10 μ l płynu Lugola i 1 ml enzymu. Zanotować absorbancję przy długości fali 600 nm. Następnie przeprowadzać pomiar po minucie i 5, 10, 15, 20, 30, 60 min. Opracować wykres funkcji absorbancji od czasu. Jak zmienia się stężenie skrobi w czasie?